Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 2, Summer 2022, p. 283-294

Genome-wide association study for economic important traits in Japanese quail-comparison of multi-step BayesB and the single-step GBLUP methods

Hossein Mohammadi[1*], Amir Hossein Khaltabadi Farahani[2], Mohammad Hossein Moradi[2], Abouzar Najafi[3]

Received: 28-12-2021
Revised: 20-02-2022
Accepted: 14-03-2022
Available Online: 14-09-2022

How to cite this article:
Mohammadi, H., A. H. Khaltabadi Farahani, M. H. Moradi and A. Najafi. 2022. Genome-Wide Association Study for Economic Important Traits in Japanese quail-Comparison of Multi-Step BayesB and the Single-Step GBLUP Methods. Iranian Journal of Animal Science Research, 14(2):283-294.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.74284.1059

Introduction Applying the appropriate statistical method to genome wide association studies (GWAS) is one of the major factors influencing the identify chromosome regions effect of quantitative traits. The single-step genomic best linear unbiased prediction (ssGBLUP) approach, a quite common procedure in GWAS, has the advantage of simultaneously using the phenotypes of genotyped and non-genotyped animals, pedigrees, and genotypes; therefore, there is no need to calculate pseudo-phenotypes. It has been reported that the use of ssGBLUP procedure increased the accuracy of genetic evaluation in many contexts and species compared with pedigree-based BLUP. However, the ssGBLUP assumes that all SNPs explain the same amount of genetic variance, which is unlikely in the case of traits whose major genes or QTL are segregating. The weighted single-step genome wide association studies (WssGWAS) approach allows the use of different weights for each SNP according to their trait-relevant importance and improves the accuracy of genetic evaluation and the precision of estimates of SNP effects. Thus, The aim of the present study was to compare the explained genetic variance from multi-step Bayes B (MS-BayesB) method in the different values of π with weighted single-step genome wide association study (WssGWAS) method related to some economically important traits in 920 Japanese quails.

Materials and Methods For each bird, a total of three traits including body weight gain (BWG), feed intake (FI) and feed conversion ratio (FCR) were recorded and by using Illumnia iSelect 4K Japanese quail SNP Bead chip. For associations between traits and effective SNPs using the GenSel and BLUPF90 family software. The effects of markers and the genomic estimated breeding values of the traits were obtained by five iterations of WssGWAS. The proportion of additive genetic variance (agv) for each of 1.5-Mb genomic window (adjacent SNPs) was used to identify informative genomic regions and candidate genes, accounting for more than 1% of the agv. Also, to estimate SNP marker effects, the Bayes-B method was used (Meuwissen et al., 2009) with set π 0.90, 0.95, 0.99 The Bayes-B method assumes that some proportion (π) of SNP markers has zero effects. The posterior distributions of the parameters and effects were obtained using Gibbs sampling. We performed a Markov chain Monte Carlo (MCMC) simulation of 41,000 rounds with Gibbs sampling, of which the first 1000 iterations were discarded as burn-in. To estimate posterior means and variances of marker effects, Metropolis–Hastings samples were run for 10 iterations. The QTL windows were identified and located for candidate genes using the Coturnix_japonica_2.0 assembly.

1- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran.
*Corresponding Author Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir

DAVID v6.8 Functional Annotation Tool (Huang et al. 2009) was used for gene ontology (GO) enrichment in order to detect biological terms associated with genomic regions and gene networks identified in the analysis. Enrichment analysis of gene function was performed using implementation of the Bonferroni test of overrepresentation.

Results and Discussion These unknown genotype individuals can supply additional information to improve the statistical power of QTL detection. Sample size can influence the power of GWAS. In general, the results showed that the BayesA method performed better in explained additive genetic variance compared to BayesB method with π=90. A total of 15 significant windows over 1% explained genetic variance on 10 chromosomes were found for the BWG and explained 23.1% of agv. For FI, we identified 14 informative windows across 9 chromosomes, and explained 28.3% of the agv. Also, for the FCR, 12 significant windows were identified on 9 chromosomes and explained 27.4% of agv. The detected candidate genes in genomic regions played an important role in muscle development, feed intake and residual feed intake. Results of this study showed that use single-step Bayesian methods of phenotype, genotype and pedigree information simultaneously, had outperform in comparison than other multi-step BayesB method. Moreover, considering the identification of new genome regions and the key role of the mentioned genes in development of body weight and feed efficiency, the WssGWAS method can be validated for GWAS for economic traits in Japanese quail.

Conclusions In the present study, we identified a wide range of genomic regions associated with body weight gain and feed efficiency traits. The findings of this study provide an important foundation for future fine-mapping studies to more precisely elucidate the mutations affecting production traits in Japanese quail. Future studies should establish causative links between candidate variants and economically important phenotypes using functional analyses.

Keywords: Genetic variance, Genome scan, Genomic window, Quail.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

پویش ژنومی برای صفات مهم اقتصادی بلدرچین ژاپنی-مقایسه روش‌های چند مرحله‌ای بیز B و تک مرحله‌ای GBLUP

حسین محمّدی[1]*، امیر حسین خلت آبادی فراهانی[2]، محمد حسین مرادی[2]، ابوذر نجفی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۲/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳

محمدی، ح.، ا. ح. خلت آبادی فراهانی، م. ح. مرادی و ا. نجفی. ۱۴۰۱. پویش ژنومی برای صفات مهم اقتصادی بلدرچین ژاپنی-مقایسه روش‌های چند مرحله‌ای بیز B و تک مرحله‌ای GBLUP. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۲): ۲۹۴-۲۸۳.

چکیده

هدف پژوهش حاضر، مقایسه میزان واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده روش چند مرحله‌ای بیز B (MS-BayesB) با روش پویش کل ژنومی تک مرحله‌ای تصحیح شده مکرر (WssGWAS) برای صفات مرتبط با بازدهی خوراک در ۹۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی بود. برای هر پرنده، افزایش وزن بدن (BWG)، میزان خوراک مصرفی (FI) و ضریب تبدیل خوراک (FCR) رکورد اندازه‌گیری شده و با استفاده از یک تراشه SNP ژنوم بلدرچین ژاپنی (Illumina iSelect 4K) تعیین ژنوتیپ شدند. میزان اثر هر یک SNPها با استفاده از نرم افزار GenSel و BLUPF90 برآورد گردید. پنجره‌هایی که بیش از ۱٪ واریانس را بیان می‌کردند به عنوان مناطق ژنومی اصلی استفاده شدند. نتایج این پژوهش نشان داد در مجموع روش WssGWAS از نظر میزان واریانس ژنتیکی افزایشی بیان شده در مقایسه با روش MS-BayesB عملکرد بهتری داشت. تعداد ۱۵ پنجره ژنومی با بیش از ۱٪ واریانس ژنتیکی بیان شده روی ۱۰ کروموزوم مختلف، ۲۳/۱٪ واریانس ژنتیکی صفت افزایش وزن بدن را توجیه می‌کردند. تعداد ۱۴ پنجره روی ۹ کروموزوم مرتبط با میزان خوراک مصرفی بودند. این پنجره‌ها ۲۸/۳٪ واریانس ژنتیکی را بیان می‌کردند. همچنین برای ضریب تبدیل خوراک تعداد ۱۲ منطقه ژنومی روی ۹ کروموزوم، سهم ۲۷/۴٪ از واریانس ژنتیکی کل داشتند. نتایج این پژوهش نشان داد که در مجموع روش WssGWAS به علت استفاده همزمان از اطلاعات شجره‌ای، فنوتیپی و ژنوتیپی عملکرد بهتری در مقایسه با روش چند مرحله‌ای BayesB دارد. علاوه بر این، با توجه به شناسایی مناطق ژنومی جدید و نقش کلیدی ژن‌های ذکر شده در ایجاد صفات وزن بدن و بازده خوراک می‌توان کارآیی روش WssGWAS برای پویش ژنومی در صفات مهم اقتصادی در بلدرچین ژاپنی را تأیید کرد.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین، پنجره ژنومی، پویش ژنومی، واریانس ژنتیکی

مقدمه

هدف نهایی از مطالعات پویش کل ژنومی که به منظور شناسایی وابستگی بین یک نشانگر SNP و یک صفت با استفاده از نشانگرهای با تراکم بالا در سطح ژنوم است، پیدا کردن جهش‌های علّی یا مسبب می‌باشد که بر فنوتیپ یک صفت اثر می‌گذارند. این اطلاعات می‌تواند برای انتخاب به کمک نشانگر مفید بوده و به درک مکانیسم مولکولی صفات مورد مطالعه کمک نماید (Marchesi et al., 2021; Honarvar et al., 2012).

از سوی دیگر مدل‌های آماری می‌توانند اثر تعیین کننده‌ای بر دقت شناسایی این مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مهم اقتصادی داشته باشند تا جائیکه در صفات کمی با معماری ژنتیکی مختلف، مدل‌های

۱. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۲. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۳. استادیار گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
(* نویسنده مسئول: Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.74284.1059

آماری عملکرد متفاوتی دارند. مدل های آماری می‌توانند اثر تعیین کننده‌ای بر یافتن این مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مهم اقتصادی داشته باشند تا جائیکه در صفات کمی مختلف، مدل‌های متفاوت کارآیی بهتری دارند. ارزیابی ژنومی با استفاده از روش های چند مرحله‌ای مانند روش بیز B، بر مبنای داده های فنوتیپی و ژنوتیپی صورت گرفته و اثرات نشانگرها برآورد می‌شود (Meuwissen *et al.*, 2009). در مدل آنالیز برای مرحله دوم، تنها اثرات در نظر گرفته شده، اثرات نشانگرها خواهد بود و پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی برای دام‌های تعیین ژنوتیپ شده با استفاده از این اثرات صورت خواهد گرفت (Wang *et al.*, 2012).

در روش های بیزی می‌توان به دلخواه توزیع های متفاوتی برای دسته‌های مختلف از متغیرهای ژنتیکی در نظر گرفت. به طور کلی در روش بیزی توجه به اطلاعات گذشته برای پارامترهای مدل توزیع پیشین در نظر گرفته می‌شود و سپس توزیع پسین متناسب با حاصلضرب تابع درستنمایی در توزیع توأم پیشین در نظر گرفته می‌شود و در نهایت برآورد بیزی پارامترها از میانگین توزیع پسین محاسبه می‌شود (Fernando *et al.*, 2013).

به دلیل محدودیت های روش های چند مرحله‌ای از جمله عدم استفاده همزمان اطلاعات در مدل، در سال‌های اخیر از روش تک مرحله‌ای بهترین پیش بینی خطی ناریب ژنومی برای برآورد ارزش اصلاحی ژنومی استفاده می شود. از طرف دیگر، با توجه به هزینه‌بر بودن تعیین ژنوتیپ بسیار زیادی از افراد در جمعیت مرجع، یک راه‌حل برای غلبه برای این محدودیت استفاده از روشی است که از اطلاعات فنوتیپی حیواناتی که تعیین ژنوتیپ نشده‌اند بهره می‌گیرد. روش تک‌مرحله‌ای از اطلاعات افراد ژنوتیپ شده و نشده به طور همزمان برای برآورد ارزش اصلاحی ژنومی استفاده می‌نماید. در این روش ماتریس خویشاوندی شجره‌ای و ماتریس خویشاوندی نشانگری به طور همزمان داخل یک ماتریس خویشاوندی جمع می‌شوند (Christensen and Lund, 2010).

در روش تک‌مرحله‌ای به طور همزمان از اطلاعات شجره‌ای، رکورد های فنوتیپی و اطلاعات تعیین ژنوتیپ افراد، برای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی استفاده می‌شود (Aguilar *et al.*, 2010). اخیراً روش مطالعه پویش کل ژنومی برپایه تک مرحله‌ای تصحیح شده مکرر و پیش‌بینی ارزش اصلاحی ژنومی به طور موفقیت آمیز در گونه‌های مختلف از جمله گاو و گوسفند و مرغ انجام شده است و منجر به شناسایی نواحی ژنومی و ژن‌های کاندیدای جدید مرتبط با صفات مهم اقتصادی شده است (Lourenco *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2016; Guarini *et al.*, 2019). مطالعه‌ی پویش کل ژنومی براساس روش تک مرحله‌ای در جوجه‌های گوشتی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر وزن بدن در سن شش هفتگی انجام شد، نتایج نشان داد که ۱۰ منطقه ژنومی حدود ۲۳/۱ درصد از واریانس ژنتیکی را توجیه می‌کردند (Wang *et al.*, 2014).

بر خلاف مرغ که اکثر مطالعات ژنومی بر روی آن متمرکز شده است، تحقیقات بسیار اندکی بر روی بلدرچین ژاپنی صورت گرفته است. آنالیز پویش کل ژنومی برای صفات مرتبط با میانگین افزایش وزن بدن، میزان خوراک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک و قابلیت جذب فسفر و کلسیم از سن ۱۰ تا ۱۵ روزگی، انجام شده است. مناطق ژنومی معنی‌دار مرتبط با صفات مورد مطالعه روی کروموزوم‌های ۳، ۱۱ و ۱۸ شناسایی شده بود و ژن‌های کاندیدای *BMP2*، *PLCB1*، *PLCB4* و *TGFB2* نیز در این مناطق ژنومی گزارش شده بود (Vollmar *et al.*, 2021).

بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی کارایی روش چند مرحله‌ای BayesB و روش پویش ژنومی تک مرحله‌ای تصحیح شده مکرر (WssGWAS) برای برآورد میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده در حیوانات ژنوتیپ شده و نشده و متعاقب آن شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات مهم اقتصادی در یک جمعیت بلدرچین ژاپنی می‌باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق، از اطلاعات فنوتیپی مرتبط با برخی صفات مهم اقتصادی حاصل از ۹۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی که توسط دانشگاه Hohenheim آلمان تعیین ژنوتیپ شده بود، استفاده شد. برای دستیابی به اطلاعات رکوردهای فنوتیپی و ژنوتیپی از سایت (https://osf.io/57nty/) استفاده گردید. در این پژوهش، برای ایجاد نسل F_1 از آمیزش دو طرفه استفاده شده بود. بدین منظور از آمیزش ۱۲ پرنده نر از لاین A با ۱۲ پرنده ماده از لاین B نسل F_1 ایجاد شده بود. تعداد ۳۴ پرنده ماده با رعایت کمترین رابطه خویشاوندی به همراه ۱۷ پرنده نر انتخابی جهت ایجاد نسل دوم (یک نر به ازای هر دو ماده) انتخاب شده بودند، به این ترتیب تعداد ۹۲۰ پرنده طی ۱۲ دوره جوجه‌کشی، نسل F_2 را بوجود آوردند. صفات مورد مطالعه شامل افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک بین روزهای ۱۰ تا ۱۵ روزگی بودند.

پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای DNA استخراج شده، نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا با آرایه‌های 4K iSelect تعیین ژنوتیپ شده بودند. جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده انجام شد.

برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ شده، ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آنها کمتر از ۹۰٪ بود، شناسایی و حذف شد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آنها کمتر از ۳٪ بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در

نمونه‌ها کمتر از ۹۰٪ بود شناسایی و حذف شدند. همچنین نشانگرهایی که روی کروموزوم‌های جنسی و دو گروه لینکاژی (LG) بودند کنار گذاشته شدند. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK انجام شد (Purcell *et al.*, 2007). از مجموع ۵۳۸۸ نشانگر به کار رفته در این تحقیق، ۳۹۸۶ نشانگر و ۸۸۸ پرنده توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

آنالیز پویش کل ژنومی بر پایه روش چند مرحله‌ای بیزB

در روش بیز B فرض بر این است که تنها بخشی از جایگاه‌های ژنی مؤثر بر کل واریانس ژنتیکی صفت می‌باشند و در نتیجه بخش اعظمی از جایگاه‌های ژنی نقشی در ایجاد واریانس ژنتیکی صفت ندارند. به عبارت دیگر فرض اصلی بیز B این است که بسیاری از SNPها در بخش‌هایی از ژنوم قرار دارند که تأثیری بر صفات ندارند در حالی که فقط بخش اندکی از SNPها در عدم تعادل پیوستگی با QTL بوده و دارای توزیع t می‌باشند.

مدل آماری مورد استفاده در روش بیز B به صورت رابطه ۱ بود:

$$y = \mu + \sum_{j=1}^{n} Z_j \alpha_j \delta_j + e \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

در رابطه (۱)، y: بردار مشاهدات، μ: میانگین جامعه، n: تعداد نشانگرهای SNP، $\boldsymbol{Z_j}$: متغیر کمکی ژنوتیپی j‌اُمین نشانگر SNP که به صورت (AA =−10, AB =0 and BB =10) کد شده است، $\boldsymbol{\alpha_j}$: اثر جایگزینی آللی SNPj، $\boldsymbol{\delta_j}$: نشان دهنده عدم حضور (با احتمال π) یا حضور (با احتمال π-1) جایگاه i در مدل است که در تحقیق حاضر π در سه سطح مختلف (0.90 ,0.95 ,0.99) مورد آزمون قرار گرفت تا سطح بهینه π برای هر کدام از صفات مورد مطالعه برآورد شود و e: بردار اثر تصادفی باقیمانده است.

برای اجرای روش‌های چند مرحله‌ای بیزی از نرم افزار GenSel (نسخه ۲/۱۴) (Fernando and Garrick, 2009) و الگوریتم نمونه‌گیری گیبس برای نمونه گیری پسین شرطی اثرات نشانگری استفاده شد و استنباط اثرات نشانگری با استفاده از زنجیره‌های ۴۱۰۰۰ نمونه‌ای (۱۰۰۰ نمونه اولیه برای قلق گیری و ۴۰۰۰۰ نمونه بعدی برای استنباط توزیع پسین) صورت گرفت (Moreira *et al.*, 2018).

آنالیز پویش کل ژنومی به روش تک مرحله‌ای تصحیح شده مکرر (ssGWAS)

مدل مورد استفاده برای ارزیابی ژنتیکی و محاسبه ارزش‌های اصلاحی ژنومی صفات مورد مطالعه به شکل (رابطه ۲) بود (Zhou *et al.*, 2019):

$$y = X\beta + Za + e \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

در این رابطه؛ **y**: بردار رکوردهای فنوتیپی مورد بررسی؛ β: بردار اثرات عوامل ثابت شامل اثر ثابت جنس و دوره جوجه‌کشی؛ a: بردار اثرات تصادفی ژنتیکی افزایشی؛ X و Z ماتریس ضرایب که مشاهدات را به ترتیب به بردارهای اثر عوامل ثابت و ارزش‌های ژنتیکی افزایشی مرتبط می‌کند و **e**: بردار اثر تصادفی باقیمانده است.

در مطالعه پویش کل ژنومی به کمک روش ژنومی تک مرحله‌ای (Zhou *et al.*, 2019) به طور همزمان از منابع اطلاعاتی شامل کلیه اطلاعات ژنوتیپ، شجره و فنوتیپ افراد دارای اطلاعات ژنوتیپ و بدون اطلاعات ژنوتیپ استفاده می‌شود. در این روش از ترکیب ماتریس روابط خویشاوند ژنومی براساس اطلاعات SNPها (G) و ماتریس روابط خویشاوندی شجره‌ای (A) و تشکیل ماتریس ترکیبی جدید (H)، برای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی (GEBV) و سپس محاسبه اثر هر نشانگر SNP استفاده می‌شود.

ماتریس H به عنوان ماتریس روابط خویشاوندی ترکیبی بوده و معکوس آن عبارت است (رابطه ۳) از A^{-1}، نشان‌دهنده معکوس ماتریس روابط خویشاوندی شجره‌ای؛ G^{-1}، معکوس ماتریس خویشاوندی ژنومی براساس اطلاعات نشانگرهای SNP و A_{22}^{-1} معکوس ماتریس روابط خویشاوندی براساس اطلاعات شجره مربوط به حیواناتی که اطلاعات ژنوتیپ آنها در دسترس است (Misztal *et al.*, 2018).

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix} \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

با توجه به متفاوت بودن اثر هر SNP، از پویش کل ژنومی تک مرحله‌ای تصحیح شده مکرر (WssGWAS) (iterative weighted single step GWAS) استفاده شد (Wang *et al.*, 2012)، که در آن ماتریس خویشاوندی ژنومی و اثرات SNP براساس اهمیت نسبی روی صفت، تصحیح و در نهایت سبب افزایش صحت می‌شوند (Zhou *et al.*, 2019). وزن دادن به SNPها در هر مرحله تکرار (iteration) براساس روش پیشنهادی (VanRaden, 2008) تحت عنوان روش غیر خطی A انجام شد. زمانی‌که نتایج دو مرحله متوالی یکسان شوند (از نظر میزان برآورد صحت پیش‌بینی ژنومی)، توقف و نتایج مورد استفاده واقع می‌شوند (در پژوهش حاضر تکرار دوم از پنج تکرار). به عبارت دیگر از تکرار سوم میزان صحت پیش‌بینی ژنومی به طور آهسته کاهش یافت. نتایج این تحقیق براساس واریانس ژنتیکی توجیه شده توسط پنجره‌های (SNP window) ۱/۵ مگابازی از SNPهای مجاور (Moving windows) ارائه شده است (Han and Peñagaricano, 2016). به عبارت دیگر روش ویندوزی (پنجره) مورد استفاده در این پژوهش، روش *n* Mb window of adjacents SNPs (Misztal *et al.*, 2018) می‌باشد و مقدار n برابر ۱/۵ مگاباز در نظر گرفته شده است.

برای برآورد واریانس ژنتیکی توجیه شده در اُمین ناحیه ژنومی از رابطه ۴ استفاده گردید:

$$\frac{\mathrm{Var}(a_i)}{\sigma_a^2} = \times 100\% = \frac{\mathrm{Var}\left(\sum_{j=1}^{B} Z_j \hat{u}_j\right)}{\sigma_\alpha^2} \times 100\%$$

(رابطه ۴)

در این رابطه، a_i: ارزش ژنتیکی در اُمین ناحیه ژنومی تحت مطالعه، σ_a^2 واریانس ژنتیکی کل، Z_j بردار اثر ژنی از اُمین نشانگر SNP برای کل افراد و $\hat{u}_j$ اثر اُمین نشانگر SNP در داخل اُمین ناحیه ژنومی. پنجره هایی که بیش از ۱٪ واریانس ژنتیکی را در برداشتند، به عنوان پنجره‌ها و نواحی ژنومی اصلی در نظر گرفته شدند و جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا در نظر گرفته شدند.

جهت انجام آنالیزهای WssGWAS از نرم‌افزارهای BLUPF90 و postGSf90 نسخه ۱/۴۶ (Aguilar *et al.*, 2010) استفاده گردید.

همچنین برای شناسایی ژن‌های کاندیدای در مناطق ژنومی با استفاده از جستجو در پایگاه اطلاعاتی آنلاین Ensembl 104 Genes بوسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) انجام شد. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی رکوردهای فنوتیپی صفات مورد مطالعه شامل افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی بین روزهای ۱۰ تا ۱۵ در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- آمار توصیفی مربوط به صفات مورد بررسی در بلدرچین ژاپنی بین ۱۰ تا ۱۵ روزگی

Table 1- Descriptive statistics of studied traits between 10 to 15 days in Japanese quail

صفات Traits	واحد Unit	حداقل Minimum	حداکثر Maximum	میانگین Mean
خوراک مصرفی Feed intake	گرم gram	16.11	62.35	42.65
افزایش وزن بدن Body weight gain	گرم gram	5.80	37.85	24.50
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	گرم/گرم gram/gram	1.21	3.92	1.78

میزان واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده در قالب پنجره‌های ۱/۵ مگابازی براساس روش‌های WssGWAS و بیز B به تفکیک هر صفت در شکل ۱ و ۲ ارائه شده‌اند. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میزان واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده بدست آمده هنگام استفاده از SNPها حاکی از برتری WssGWAS نسبت به روش بیز B بود. پنجره‌های ژنومی ۱/۵ مگابازی با بیشتر از ۱٪ واریانس ژنتیکی توجیه شده (مناطق ژنومی کاندیدا) برای صفات افزایش وزن بدن، میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک به ترتیب ۲۳/۱۷، ۲۸/۳۲ و ۲۷/۴۲ درصد براساس روش WssGWAS بدست آمد.

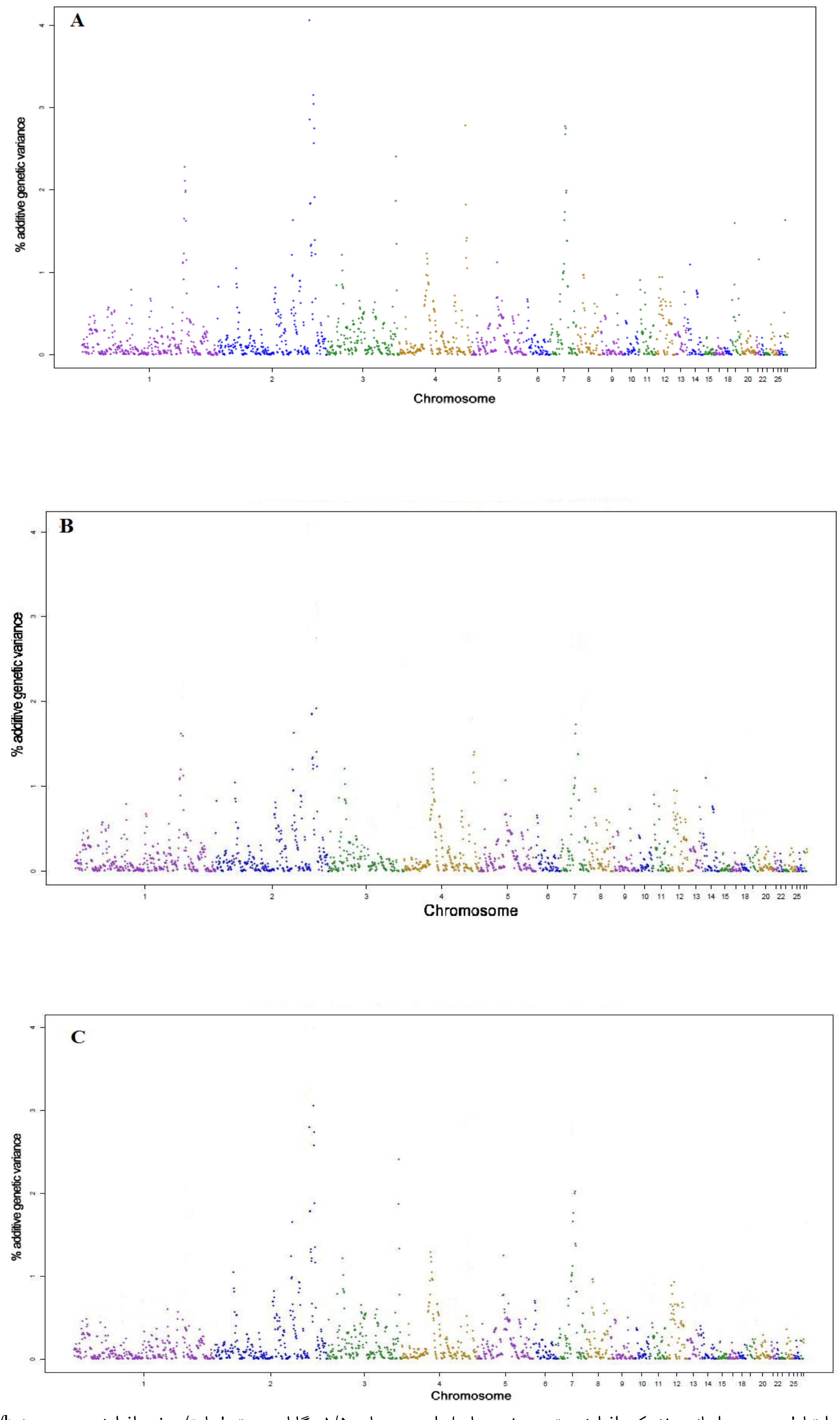
دلیل این امر را می‌توان به توزیع مقدار محدودی واریانس ژنتیکی بر تعداد زیادی QTL دانست که در نتیجه سهم هر QTL در ارزش ژنتیکی کل کاهش یافته است و قدرت مدل بیزی همراه با انتخاب متغیر بیز B کاهش یافته است. به عبارت دیگر با توجه به اینکه روش WssGWAS سهم یکسانی از واریانس را برای نشانگرهای اختصاص می‌دهد، در حالیکه در مدل بیز B برحسب توزیع پیشین وزن‌های متفاوتی به نشانگر داده می‌شود (Fernando and Garrick, 2013).

در پژوهشی که با استفاده از اطلاعات مرتبط با تولید شیر و ترکیبات چربی و پروتئین شیر در گاوهای هلشتاین کرهای انجام شده بود. روش تک مرحله‌ای GBLUP در مقایسه با روش چند مرحله‌ای بیز B میزان واریانس ژنتیکی بیشتری را توجیه می‌کرد و همچنین تعداد پنجره های ژنومی کاندیدای (بیش از ۱٪ واریانس ژنتیکی) بالاتری شناسایی شده بود (Lee *et al.*, 2019).

دلیل دیگر احتمالاً این موضوع باشد که در روش‌های تک مرحله‌ای با استفاده از رکورد حیوانات تعیین ژنوتیپ شده و نشده به طور همزمان استفاده می‌شود. به عبارت دیگر در این روش از تمام اطلاعات در دسترس برای حیوان (شجره، فنوتیپ و ژنوتیپ) در معادلات پیش‌بینی ژنومی استفاده می‌گردد بنابراین در این روش تعداد مشاهدات بیشتری نسبت به روش‌های چند مرحله‌ای بیزی استفاده می‌شود (Fernando and Garrick, 2013).

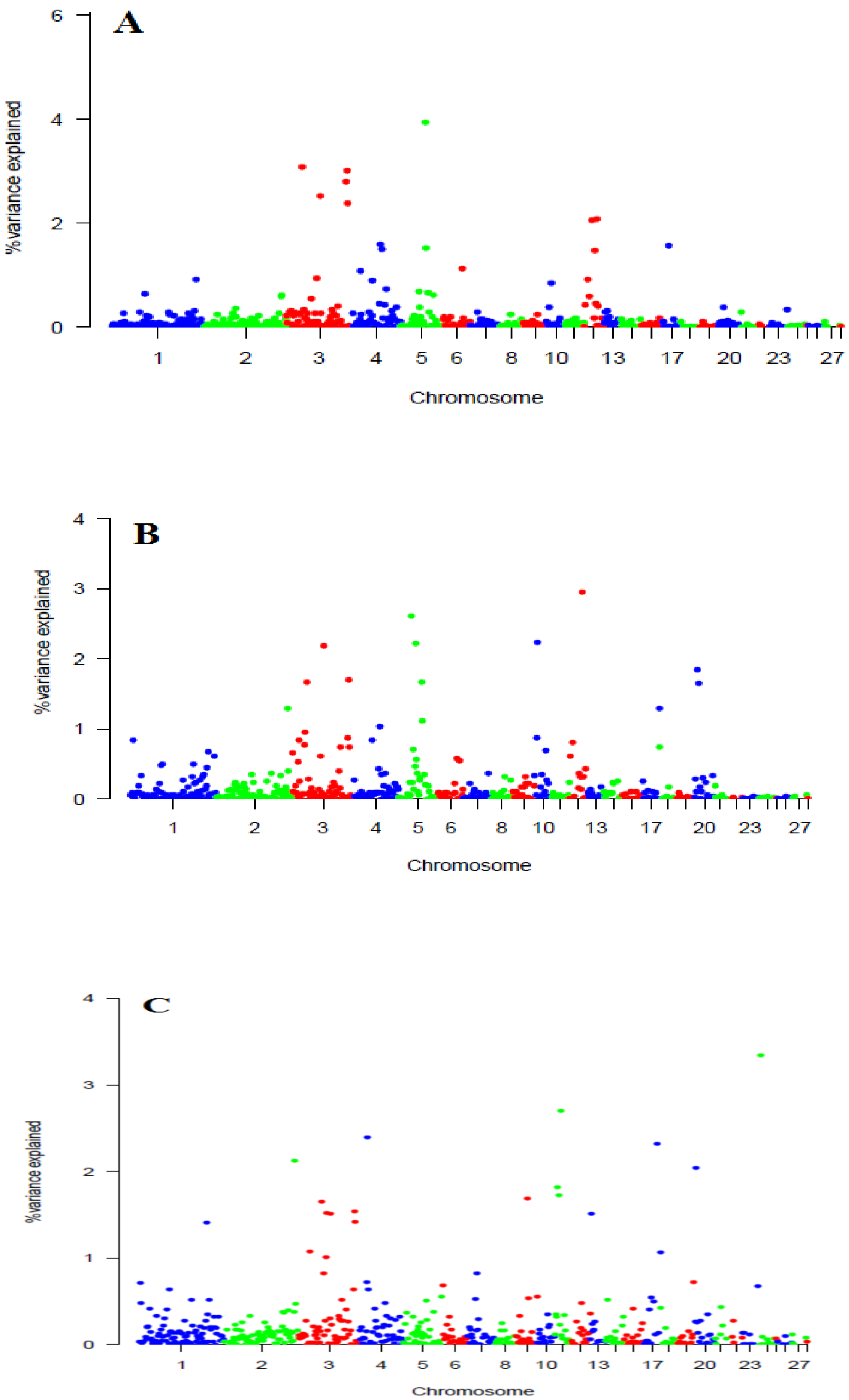
پنجره‌های ژنومی با بیش از ۱٪ واریانس ژنتیکی توجیه شده از روش WssGBLUP همراه با ژن‌های کاندیدای مکانی مرتبط با آنها در جداول ۲، ۳ و ۴ گزارش شده است.

در شکل ۱-a، نتایج ارتباط پنجره‌های SNP با صفت افزایش وزن بدن در دوره بین ۱۰ تا ۱۵ روزگی مشاهده می‌شود. مهمترین پنجره های ژنومی (جدول ۲) به ترتیب روی دو ناحیه مختلف کروموزوم شماره ۴ با بیان حدود ۴/۰۱ در صد، کروموزوم شماره ۷ با بیان حدود ۲/۷۷ درصد و کروموزوم شماره ۵ با بیان حدود ۱/۱۱ درصد از واریانس ژنتیکی افزایشی صفت بودند.



شکل ۱- نمودارهای منهتن ارتباط و درصد واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده حاصل از پنجره‌های ۱/۵ مگابازی مرتبط با a) صفت افزایش وزن بدن؛ b) صفت خوراک مصرفی؛ c) ضریب تبدیل خوراک مبتنی بر روش تک مرحله‌ای GBLUP.

Figure 1– Manhattan plot for the proportion of additive genetic variance explained by each of 1.5-Mb genomic windows associated with the body weight gain (a) feed intake (b), and feed conversion ratio (c) based WssGWAS.



شکل ۲- نمودارهای منهتن ارتباط و درصد واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده حاصل از پنجره‌های ۱/۵ مگابازی مرتبط با a) صفت افزایش وزن بدن؛ b) صفت خوراک مصرفی؛ c) ضریب تبدیل خوراک مبتنی بر روش بیز B.

Figure 2- Manhattan plot for the proportion of additive genetic variance explained by each of 1.5-Mb genomic windows associated with the body weight gain (a) feed intake (b), and feed conversion ratio (c) based on BayesB.

جدول ۲- پنجره‌های ۱/۵ مگاباز از SNPهای با بیش از ۱ درصد واریانس ژنتیکی افزایشی بیان شده مؤثر بر افزایش وزن بدن و ژن‌های کاندیدا

Table 2- 1.5-Mb genomic windows associated with the body weight gain, accounting for more than 1% of the additive genetic variance and related candidate genes

ژن‌های کاندیدای مکانی[1] positional candidate genes	میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده (٪) Explained genetic variance (%)	شروع (مگاباز) Start (Mb)	انتها (مگاباز) End (Mb)	کروموزوم Chromosome
RNF212, FGFRL1, ATOH8, POLR1A, PTCD3, REEP1, ***SMYD1***	2.78	77.83	76.57	4
PTPN4*, CLASP1, RALB, TMEM177, MRAS, CNTNAP5*	2.77	22.26	20.78	7
LEF1, HADH, SGMS2, PAPSS1, AIMP1, NPNT, PPA2, ACSL , TETS, TACR3, LRP2BP, CFAP97, SLC25A4	1.23	34.90	33.43	4
SPTSSA, EAPP, SNX6, ***CFL2****, SRP54, BRMS1L*	1.11	33.50	32.30	5

[1]ژن‌های کاندیدا مرتبط با صفت به صورت پر رنگ نشان داده شده‌اند.

[1]Candidate genes associated with trait are shown in bold.

منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۴ در ناحیه ۷۷ مگابازی، شامل ژن کاندیدای *SMYD1* بود. ژن *SMYD1* در شروع و تو سعه ماهیچه‌های اسکلتی در بدن نقش کلیدی دارد (Rescan, 2001). همچنین در تو سعه سلول‌های ماهیچه ا سکلتی دخالت دا شته و نقش مؤثری در تکثیر میوبلا ست در طول شکل‌گیری فیبرها دارد (Do *et al.*, 2013).

دیگر منط قه ژنومی مؤثر بر افزایش وزن بدن روی کروموزوم شماره ۵ در ناحیه ۳۳ مگابازی شامل ژن کاندیدای *CFL2* بود. در پژوهشی با تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم در مراحل مختلف رشد جوجه‌های گوشتی و بررسی متیلاسیون DNA عضلات اسکلتی، ژن کا ند یدای *CFL2* به عنوان ژن مؤثر بر تنظیم تفرق سلول های ماهواره‌ای (سلول های بنیادی عضله اسکلتی) و تنظیم طول فیلامنت‌های آکتین در عضلات اسکلتی گزارش شده است (Ran *et al.*, 2021).

در شکل ۱-b، نتایج ارتباط پنجره‌های SNP با صفت میزان خوراک مصرفی ارائه شده است. مهمترین منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۴ و حدود ۳/۹۰ درصد از واریانس و پس از آن منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۱۱ حدود ۱/۰۵ درصد از واریانس را توجیه می‌کرد.

منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۴ (۳۳/۹-۳۵/۳ مگا باز) شامل ژن‌های کاندیدای *ACSL1* و *PPA2* بود. ژن *ACSL1* نقش مهمی در انتقال و فعال‌سازی اسیدهای چرب داشته، بطوریکه در مرغان با بازدهی خوراک بالا تمایل به ذخیره بی شتری دارند (Neijat *et al.*, 2017). پژوهشی با تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم حاصل از تکنیک RNA-Seq بافت دئودنوم در دو گروه با باقیمانده خوراک مصرفی بالا و پایین جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای سیگنالی مرتبط با بازدهی خوراک در مرغ انجام شده بود، بیان افزایشی ژن کاندیدای *ACSL1* با میزان خوراک مصرفی کمتر گزارش شده است (Xiao *et al.*, 2021).

علاوه براین در مطالعه پویش کل ژنومی با هدف برر سی معماری ژنتیکی صفت رفتار تغذیه‌ای در خوک و مقایسه مناطق ژنومی شناسایی شده با نواحی اورتولوگ انسانی، ژن *PPA2* مرتبط با میزان خوراک مصرفی گزارش شده است (Do *et al.*, 2013). ژن *PPA2* نقش مؤثری در کنترل میزان فسفات در سلول های بدنی دارد (UniProtKB).

جدول ۳- پنجره‌های ۱/۵ مگاباز از SNPهای با بیش از ۱ درصد واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده مؤثر بر خوراک مصرفی و ژن‌های کاندیدا

Table 3- 1.5-Mb genomic windows associated with the feed intake, accounting for more than 1% of the additive genetic variance and related candidate genes

ژن‌های کاندیدای مکانی[1] positional candidate genes	میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده (٪) Explained genetic variance (%)	شروع (مگاباز) Start (Mb)	انتها (مگاباز) End (Mb)	کروموزوم Chromosome
FGF2, *FAT4, SPRY1, SPATA5, PXDC1, NUDT6, BBS12, IL21, ADAD1, KIAA1109*	2.70	48.3	47.0	4
LEF1, HADH, SGMS2, PAPSS1, AIMP1, NPNT, ***PPA2****,* ***ACSL1*** *, TETS, TACR3, LRP2BP, CFAP97, SLC25A4*	1.20	35.3	33.9	4
RBL2*, IRX3, FTO, RPGRIP1L, AKTIP, CHD9*	1.05	4.86	3.44	11

[1]ژن‌های کاندیدا مرتبط با صفت به صورت پر رنگ نشان داده شده‌اند.

[1]Candidate genes associated with trait are shown in bold.

همچنین دیگر منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۴ (۴۷/۰-۴۸/۳ مگاباز) حدود ۲/۷۰ درصد از واریانس را توجیه می‌کرد. از میان ژن‌های موجود در این منطقه، ژن کاندیدای *FGF2* مرتبط با صفت مورد بررسی بود. در مطالعه‌ای با تجزیه و تحلیل پروفایل ترنسکریپتوم عضله پا جوجه‌های گوشتی در مراحل مختلف رشد، آنالیز تفرقی بیان ژنی، اختلاف معنی‌دار افزایشی بیان ژن *FGF2* با وزن عضله پا گزارش شده است (Lu *et al.*, 2013). ژن کاندیدای *FGF2* جزئی از خانواده ژنی فاکتورهای رشد فیبروبلاست (FGF) بوده که در رشد، تمایز و مهاجرت طیف گسترده‌ای از انواع سلول ها نقش دارند (UniProtKB). ژن *FGF2* نقش مؤثری در هومو ستازی و محافظت کننده در غضروف مفصلی را دارا است. در سلول‌های غضروف مفصلی، *FGF2* باعث تغییر نسبت بین کلاژن نوع II و نوع I می‌شود و به طور بالقوه باعث تشکیل فیبروکارتیلاژ برای غضروف می‌گردد (Xue *et al.*, 2017). منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۱۱ (۳/۴۴-۴/۸۶ مگاباز) شامل ژن کاندیدای *RBL2*، حدود ۱/۰۵ در صد از واریانس ژنتیکی افزایشی صفت را بیان می‌کنند. در مطالعه‌ای با تجزیه و تحلیل ترانسکریپتوم در جوجه‌های گوشتی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدا مرتبط با رشد عضله سینه، ژن کاندیدای *RBL2* گزارش شده است (Kang *et al.*, 2021). ژن *RBL2* نقش مؤثری در تمایز و تفرق سلول‌های چربی دارد. در پژوهشی با هدف بررسی معماری ژنتیکی بازدهی خوراک در مرغ، مسیرهای زیستی شناسایی مرتبط با مصرف خوراک با متابولیسم چربی ارتباط داشتند (Xiao *et al.*, 2021).

جدول ٤– پنجره‌های ۱/۵ مگاباز از SNPهای با بیش از ۱ درصد واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده مؤثر بر ضریب تبدیل خوراک و ژن‌های کاندیدا

Table 4. 1.5-Mb genomic windows associated with the feed conversion rate, accounting for more than 1% of the additive genetic variance and related candidate genes

ژن‌های کاندیدای مکانی[1] positional candidate genes	میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده (٪) Explained genetic variance (%)	شروع (مگاباز) Start (Mb)	انتها (مگاباز) End (Mb)	کروموزوم Chromosome
RNF212, FGFRL1, ATOH8, POLR1A, PTCD3, REEP1, SMYD1	2.01	76.57	77.83	4
PTPN4, CLASP1, RALB, TMEM177, MRAS, CNTNAP5	1.54	20.78	22.26	7
LEF1, HADH, SGMS2, PAPSS1, AIMP1, NPNT, PPA2, ACSL, TETS, TACR3, LRP2BP, CFAP97, SLC25A4	1.13	33.43	34.90	4
SAMD13, TTLL7, ATRNL1	1.02	24.70	26.20	6

[1]ژن‌های کاندیدا مرتبط با صفت به صورت پر رنگ نشان داده شده‌اند.

[1]Candidate genes associated with trait are shown in bold.

در شکل ۱-c، نتایج ارتباط پنجره‌های SNP با صفت ضریب تبدیل خوراک ارائه شده است. مهمترین پنجره ژنومی (جدول ۴) به ترتیب روی دو ناحیه متفاوت کروموزوم شماره ۴ با بیان حدود ۳/۱۴ درصد، کروموزوم شماره ۷ با بیان حدود ۱/۵۴ درصد و کروموزوم شماره ۶ با بیان حدود ۱/۰۲ درصد از واریانس ژنتیکی افزایشی صفت بودند. منطقه ژنومی روی کروموزوم شماره ۶ (۲۴/۷-۲۶/۲ مگاباز) شامل ژن کاندیدای *ATRNL1* بود. در مطالعه پویش کل ژنومی با هدف بررسی معماری ژنتیکی صفت بازدهی خوراک مصرفی در مرغ، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن کاندیدای *ATRNL1* با افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک گزارش شده است (Marchesi *et al.*, 2021). ژن کاندیدای *ATRNL1* نقش کلیدی در تنظیم گیرنده‌های ملانوکورتین، سوختو ساز انرژی در ماهیچه‌های اسکلتی و هوموستازی انرژی دارند (UniProtKB).

دیگر منطقه ژنومی مؤثر بر ضریب تبدیل خوراک روی کروموزوم شماره ۷ در ناحیه ۲۱ مگابازی شامل ژن کاندیدای *PTPN4* بود. در مطالعه پویش کل ژنومی مرتبط با صفت رفتار تغذیه‌ای و بازدهی خوراک ژن کاندیدای *PTPN4* به عنوان ژن مؤثر بر میزان خوراک مصرفی گزارش شده است (Do *et al.*, 2013). ژن *PTPN4* جزوی از اعضای پروتئین‌های تیروزین فسفاتاز می‌باشد که دارای نقش مرکزی در تنظیم متابولیسم مسیرهای سیگنال‌دهی انسولین و لپتین هستند (Tsou and Bence, 2013).

نتیجه گیری کلی

در این پژوهش کارآیی روش چند مرحله‌ای بیزی و تک مرحله‌ای WssGWAS جهت شناسایی مناطق کروموزومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بلدرچین ژاپنی انجام شد. روش تک مرحله‌ای WssGWAS عملکرد بهتری در مقایسه با روش چند مرحله‌ای بیزی در توجیه میزان واریانس ژنتیکی از خود نشان داد و مناطق ژنومی کاندیدای جدیدی را شناسایی کرد. با توجه به عملکرد

بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شنا سایی شده در این پژوهش، به نظر می‌رسد این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفات مرتبط با ضریب تبدیل خوراک نقش ایفا می‌کنند، در نتیجه می‌توان کارآیی روش پویش کل ژنومی تک مرحله‌ای GBLUP برای پویش ژنومی صفات تولیدی اقتصادی را نیز مورد تأیید قرار داد.

تشکر و قدردانی

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۰۰۳۸۰ انجام شده است.

Refrences

1. Aguilar, I., I. Misztal, D. L. Johnson, A. Legarra, S. Tsuruta and T. J. Lawlor. 2010. Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. Journal of Dairy Science, 93: 743–752.
2. Christensen, O. F. and M. S. Lund. 2010. Genomic prediction when some animals are not genotyped. Genetics Selection Evolution, 42:242.
3. Do, D. N., A. B. Strathe, T. Ostersen, J. Jensen, T. Mark and H. N. Kadarmideen. 2013. Genome-wide association study reveals genetic architecture of eating behavior in pigs and its implications for human obesity by comparative mapping. PLoS One, 8(8):e71509.
4. Fernando, R. L. and D. J. Garrick. 2009. GenSel – User manual for a portfolio of genomic selection related analyses. Available: http://bigs.ansci.iastate.edu/.
5. Fernando, R. L. and D. J. Garrick. 2013. Genome-Wide Association Studies and Genomic Prediction. Berlin: Springer Series. pp. 237–274.
6. Guarini, A. R., D. A. L. Lourenco, L. F. Brito, M. Sargolzaei, C. F. Baes and F. Miglior. 2019. Genetics and genomics of reproductive disorders in Canadian Holstein cattle. Journal of Dairy Science, 102, 1341–1353.
7. Han, Y. and F. Peñagaricano. 2016. Unravelling the genomic architecture of bull fertility in Holstein cattle. BMC genetics, 17(1): 143.
8. Honarvar, M., M. Sadeghi, H. Moradi-Shahrebabak, S. H. Behzadi, H. Mohammadi and A. Lavaf. 2012. Study of Polymorphisms in the 5´ Flanking Region of the Ovine IGF-I Gene in Zel Sheep. World Applied Sciences Journal, 16 (5): 726-728.
9. Kang, H., D. Zhao, H. Xiang, J. Li, G. Zhao and H. Li. 2021. Large-scale transcriptome sequencing in broiler chickens to identify candidate genes for breast muscle weight and intramuscular fat content. Genetics Selection Evolution, 53(1):66.
10. Lee, S., C. Dang, Y. Choy, C. Do, K. Ho, J. Kim, Y. Kim and J. Lee. 2019. Comparison of genome-wide association and genomic prediction methods for milk production traits in Korean Holstein cattle. Asian-Australas Journal of Animal Science, 32(7): 913-921.
11. Lourenco, D. A. L., B. O. Fragomeni, H. L. Bradford, I. R. Menezes, J. B. S. Ferraz and I. Aguilar. 2017. Implications of SNP weighting on single-step genomic predictions for different reference population sizes. Journal of Animal Breeding and Genetics, 134: 463–471.
12. Lu, Y., S. Chen and N. Yang. 2013. Expression and methylation of FGF2, TGF-β and their downstream mediators during different developmental stages of leg muscles in chicken. PLoS One, 8(11):e79495.
13. Misztal I., S. Tsuruta, D. Lourenco, I. Aguilar, A. Legarra, and Z. Vitezica. 2018. Manual for BLUPF90 Family of Programs, pp. 125. University of Georgia, Athens, GA.
14. Marchesi, J. A. P., R. K. Ono, M. E. Cantão, A. M. G. Ibelli, J. O. Peixoto, G. C. M. Moreira, T. F. Godoy, L. L. Coutinho, D. P. Munari and M. C. Ledur. 2021. Exploring the genetic architecture of feed efficiency traits in chickens. Scientific Reports, 11(1):4622.
15. Moreira, G. C. M., C. Boschiero, A. S. M. Cesar, J. M. Reecy, T. F. Godoy, P. A. Trevisoli, M. E. Cantão, M. C. Ledur, A. M. G. Ibelli, J. O. Peixoto, D. Garrick and L. L. Coutinho. 2018. A genome-wide association study reveals novel genomic regions and positional candidate genes for fat deposition in broiler chickens. BMC Genomics, 19(1):374.
16. Meuwissen T., T. R. Solberg, R. Shepherd and J. A. Woolliams. 2009. A fast algorithm for BayesB type of prediction of genome-wide estimates of genetic value. Genetics Selection Evolution, 41: 50- 63.
17. Neijat, M., P. Eck and J. D. House. 2017. Impact of dietary precursor ALA versus preformed DHA on fatty acid profiles of eggs, liver and adipose tissue and expression of genes associated with hepatic lipid metabolism in laying hens. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 119: 1–17.
18. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M. A. R. Ferreira and D. Bender. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. The American Journal of Human Genetics, 81:559-575.
19. Ran, J., J. Li, L. Yin, D. Zhang, C. Yu, H. Du, X. Jiang, C. Yang and Y. Liu. 2021. Comparative Analysis of Skeletal

Muscle DNA Methylation and Transcriptome of the Chicken Embryo at Different Developmental Stages. Frontiers in Physiology, 12:697121.
20. Rescan, P.Y. 2001. Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 130: 1-12.
21. Tsou, R. and K. Bence. 2013. Central regulation of metabolism by protein tyrosine phosphatases. Frontiers in Neuroscience, 6: 1-11.
22. VanRaden, P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. Journal of Dairy Science, 91(11): 4414-4423.
23. Vollmar S., V. Haas, M. Schmid, S. Preuß, R. Joshi, M. Rodehutscord and J. Bennewitz. 2021. Mapping genes for phosphorus utilization and correlated traits using a 4k SNP linkage map in Japanese quail (Coturnix japonica). Animal Genetics, 52(1): 90-98.
24. Wang, H., I. Misztal, I. Aguilar, A. Legarra and W. Muir. 2012. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. Genetics Research, 94(2): 73-83.
25. Wang, H., I. Misztal, I. Aguilar, A. Legarra, R. L. Fernando, Z. Vitezica, R. Okimoto, T. Wing, R. Hawken and W.M. Muir. 2014. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. Frontiers in Genetics, 5: 134.
26. Xiao, C., J. Deng, L. Zeng, T. Sun, Z. Yang and X. Yang. 2021. Transcriptome Analysis Identifies Candidate Genes and Signaling Pathways Associated With Feed Efficiency in Xiayan Chicken. Frontiers in Genetics, 12:607719.
27. Xue, Q., G. Zhang, T. Li, J. Ling, X. Zhang and J. Wang. 2017. Transcriptomic profile of leg muscle during early growth in chicken. PLoS One, 12(3):e0173824.
28. Zhang, X., D. Lourenco, I. Aguilar, A. Legarra and I. Misztal. 2016. Weighting strategies for single-step genomic BLUP: an iterative approach for accurate calculation of GEBV and GWAS. Frontiers in Genetics, 7:151. doi: 10.3389/fgene.2016.00151.
29. Zhou, C., C. Li, W. Cai, S. Liu, H. Yin, S. Shi, Q. Zhang and S. Zhang. 2019. Genome-Wide Association Study for Milk Protein Composition Traits in a Chinese Holstein Population Using a Single-Step Approach. Frontiers in Genetics, 10:72.